

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE LA

CHLOROPHYLLE

au point de vue Chimique et Thérapeutique

LE DOYEN: M. ROGER.

PROFESSEURS: M.M.

Anatomie	NICOLAS
Anatomie médico-chirurgicale	CUNÉO
Physiologie	Ch. RICHEL
Physique médicale	André BROCA
Chimie organique et chimie générale.....	DESGREZ
Bactériologie	BEZANÇON
Parasitologie et histoire naturelle médicale.....	BRUMPT
Pathologie et thérapeutique générales.....	Marcel LABBÉ
Pathologie médicale	RÉNON
Pathologie chirurgicale	LECÈNE
Anatomie pathologique	LETULLE
Histologie	PRENANT
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET
Thérapeutique	CARNOT
Hygiène	BERNARD
Médecine légale	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	MÉNÉTRIÉR
Pathologie expérimentale et comparée.....	ROGER
	ACHARD
Clinique médicale	WIDAL
	GILBERT
	CHAUFFARD
Hygiène et clinique de la première enfance.....	MARFAN
Clinique des maladies des enfants.....	NOBÉCOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.....	DUPRÉ
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	JEANSELME
Clinique des maladies du système nerveux.....	P. MARIE
Clinique des maladies contagieuses.....	TEISSIER
	DELBET
Clinique chirurgicale	LEJARS
	HARTMANN
	GOSSET
Clinique ophtalmologique	DE LAPERSOL
Clinique des maladies des voies urinaires.....	LEGUEU
	BAR
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE
	BRINDEAU
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE
Clinique chirurgicale infantile.....	BROCA August
Clinique thérapeutique	VAQUEZ
Clinique oto-rhino-laringologique	SEBILEAU
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	DUVAL

AGRÉGÉS EN EXERCICES

MM.	MM.	MM.	MM.
ABRAMI	DUVOIR	LARDENNOIS	RATHERY
ALGLAVE	FIESSINGER	LE LORIER	RETERER
BASSET	GARNIER	LEMIERRE	RIBIERRE
BAUDOUIN	GOUGEROT	LEQUEUX	RICHAUD
BLANCHETIÈRE	GRÉGOIRE	LEREBOUILLET	ROUSSY
BRANCA	GUÉNIOT	LÉRI	ROUVIÈRE
CAMUS	GUILLAIN	LÉVY-SOLAL	SCHWARTZ
CHAMPY	GUILLEMINOT	MATHIEU	TANON
CHEVASSU	HEITZ-BOYER	METZGER	TERRIEN
CHIRAY	JOYEUX	MOCQUOT	TIFFENEAU
CLERC	LABBÉ (Henri)	MULON	VILLARET
DEBRÉ	LAIGNEL-LAVASTINE	OKINCZYC	
DESMAREST	LANGLOIS	PHILIBERT	

TRAVAIL DU SERVICE DE M. LE D^r OETTINGER

A L'HOPITAL COCHIN

(Thèse pour le Doctorat en Médecine)

625

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA
CHLOROPHYLLE

au point de vue Chimique et Thérapeutique

PAR LE

Docteur ANDRÉ CASTELBON

Né à Paris, le 29 Avril 1895

LICENCIÉ-ÈS SCIENCES



PARIS

T. BRUGIÈRE, IMPRIMEUR-ÉDITEUR

38, Rue Madame, 38

1921

A MES PARENTS.

A MA FEMME.

A MA FAMILLE.

A Monsieur le Professeur CARNOT, qui nous a fait le grand honneur de présider cette thèse.

A Monsieur le Docteur OETTINGER, qui nous a prodigué ses conseils pour l'exécution de ce travail.

A mes autres Maîtres dans les Hôpitaux :

M. le Professeur agrégé DESMAREST.

M. le D^r MICHON.

M. le Professeur BAR.

M. le D^r VARIOT.

M. le D^r SOUQUES.

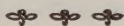
A Monsieur le D^r BEAUFUMÉ.

A MES AMIS.

PREMIÈRE PARTIE

La Chlorophylle

RÉSUMÉ DE SES PROPRIÉTÉS CHIMIQUES



Nous avons cherché, dans cette première partie, à résumer d'une façon à la fois simple et aussi complète que possible, les principales propriétés chimiques de la Chlorophylle, telles qu'elles résultent des travaux les plus récents (1).

Nous avons insisté surtout sur la parenté chimique existant entre le pigment chlorophyllien d'une part, les pigments sanguin et biliaire d'autre part, parenté qui se trouve signalée par beaucoup d'auteurs dès la fin du siècle dernier (Armand Gautier, Dastre et Floresco, Schunck et Marchlewski, Nencki, etc.) et qui est maintenant bien connue, surtout grâce aux travaux de Willstätter.

Si nous nous sommes étendus beaucoup sur ce sujet, développant parfois à l'extrême certaines formules chimiques arides, passant rapidement au contraire sur d'autres propriétés peut-être plus importantes de la Chlorophylle, c'est que cette parenté est l'idée maîtresse qui a donné naissance à notre travail.

(1) On trouvera, à la fin de ce travail, la liste des principaux ouvrages consultés.

CHAPITRE I

Composition chimique générale.

La chlorophylle est une substance très répandue dans la nature, puisque c'est le pigment vert des feuilles. Elle existe aussi chez quelques algues, en particulier les Chlorophycées. Dans le reste du monde végétal, elle manque ; et dans le règne animal on l'a signalée dans quelques organismes inférieurs : Protozoaires (Vorticella, Amœba, Stentor, Volvox, etc.) Spongiaires, Coelentérés, et chez les animaux supérieurs surtout au niveau du foie : mollusques, crustacés, insectes, etc.

Partout, dans l'organisme vivant, la chlorophylle a les mêmes fonctions. Et en particulier, elle utilise l'énergie lumineuse pour fixer le carbone de l'acide carbonique de l'air et effectuer la synthèse des matières organiques, par l'intermédiaire de l'aldéhyde formique. C'est ce qu'on appelle l'assimilation chlorophyllienne.

Mais la chlorophylle n'est pas le seul pigment des feuilles. Dès 1838, Berzélius, en traitant des feuilles par l'alcool, a obtenu une solution verte de laquelle il a séparé par la benzine une substance verte, la chlorophylle, l'alcool restant prenant une teinte jaune, due à un second pigment la xanthophylle, encore un peu mélangée de chlorophylle.

Plus tard, Arnaud, par macération de feuilles séchées au vide dans du pétrole léger, obtint une substance cristallisée rouge, la carotène, hydrocarbure qui se rapproche de la xanthophylle par sa composition chimique.

Aussi, la chlorophylle est-elle difficile à obtenir à l'état de pureté, et les premiers auteurs au premier rang desquels il convient de placer Hoppe-Seyler, Armand Gautier, Etard ont conclu à la pluralité des chlorophylles suivant les plantes et les procédés par lesquels ils les obtenaient.

Mais les travaux récents de Willstätter ont démontré que la chlorophylle pure est amorphe, les soit disant chlorophylles obtenues cristallisées n'étant que des produits de transformation.

Voici d'ailleurs, d'après cet auteur, la méthode employée pour obtenir, à partir des feuilles, de la chlorophylle pure :

L'extraction doit se faire à l'abri des acides des feuilles; aussi commence-t-on par mélanger les feuilles (100 kgs), pulvérisées, avec une pâte épaisse de carbonate de chaux. Puis on les met en contact avec 20 litres d'alcool à 96° et on agite vigoureusement le mélange pendant 48 heures, on filtre puis on essore.

La liqueur alcoolique ainsi obtenue est additionnée successivement de 20 à 25 litres d'éther, puis, pour lavage, de 60 litres d'eau, enfin de 250 cm³ d'une solution aqueuse saturée de chlorure de Sodium.

Après distillation, il reste un résidu de Chlorophylle brute qu'on peut purifier par épuisements successifs (méthode des dissolvants neutres, procédé colloïdal).

Il se produit parfois des cristaux de Chlorophylle cristallisable qu'on peut séparer facilement avec du pétrole. On en obtient plus ou moins suivant l'espèce végétale à laquelle on s'adresse pour l'extraction, et aussi suivant la rapidité du traitement des feuilles. Peu abondants au cours d'un traitement rapide, ils peuvent prendre naissance, au contraire, au dépens de la Chlorophylle amorphe quand on l'abandonne longtemps en solution alcoolique. Cette transformation de la Chlorophylle amorphe en Chlorophylle cristallisable est due à une enzyme particulière, très abondante chez les végétaux, et surtout chez les labiées, et qu'on nomme la Chlorophyllase. Précipitée par l'alcool fort de la sève de ces végétaux, elle permet d'obtenir la Chlorophylle cristallisée à partir de n'importe quelle espèce végétale, par simple addition de quelques grammes dans une solution alcoolique du pigment.

La Chlorophylle, ainsi obtenue, se présente sous la forme d'une masse amorphe, d'aspect cireux et d'un beau vert, soluble dans les solvants neutres, dans l'alcool, les huiles grasses et essentielles, encore plus soluble dans l'éther, la benzine et le sulfure de carbone. Ses solutions sont dichroïques, douées d'une belle teinte vert émeraude par transparence, fluorescentes en rouge, ayant des propriétés optiques qui ont été particulièrement bien étudiées, et donnant un spectre caractéristique permettant de déceler la présence de très petites quantités de Chlorophylle dans un mélange.

Suivant la dilution plus ou moins forte, on obtient quatre bandes plus ou moins larges et plus ou moins visibles, mais dont la première est caractéristique parce qu'elle persiste, même pour des solutions très

étendues ne donnant pas les autres bandes (Raie de Brewster, du nom de celui qui l'a étudiée pour la première fois, en 1834).

Ces bandes ont les caractéristiques suivantes :

Bande I : très apparente et très noire λ 670 à λ 635
(entre B et C, dans le rouge).

Bande II : λ 622 à λ 591
(à gauche de D, dans le rouge).

Bande III : λ 587 à λ 565
(immédiatement à droite de D, à la naissance du
jaune et du vert).

Bande IV : λ 543 à λ 530
(dans le vert).

Absorption complète de la partie droite du spectre à partir de F.

Ajoutons que les solutions habituelles de Chlorophylle sont très altérables à l'air et qu'elles se décolorent facilement à la lumière. Les solutions huileuses, au contraire, présentent une résistance très prononcée, ne s'altérant qu'insensiblement après plusieurs mois d'exposition au soleil.

La chlorophylle doit son nom à Pelletier et Caventou qui l'étudièrent les premiers en 1818. Depuis, les travaux qui lui ont été consacrés ont été très nombreux puisque en 1884 Tschirch releva déjà 600 publications à son sujet dont 252 d'ordre chimique.

Au point de vue de sa composition chimique seule, elle a été étudiée par de nombreux chercheurs, et son interprétation, difficile, a changé considérablement depuis les trente dernières années.

D'abord considérée comme un composé ferrugineux, étudiée et interprétée par Hoppe Seyler (1879) puis par Stoklosa comme une lécithine dont les acides gras seraient remplacés par l'acide chlorophyllanique et dont la base serait voisine de la choline, elle a été bien analysée en 1884 par Armand Gautier, qui a montré l'absence complète de fer, la présence de phosphore et de magnésium. Plus récemment, Willstätter ne trouve pas de phosphore dans la chlorophylle purifiée, préparée comme il a été dit plus haut, mais signale la présence constante d'une quantité de Magnésium assez importante. Il se base sur les dérivés obtenus par l'action de divers réactifs sur la chlorophylle pour en donner la formule et l'interpréter ainsi que nous le verrons plus loin.

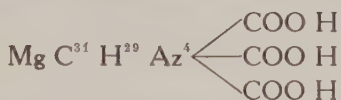
D'après lui, la chlorophylle pure, c'est-à-dire la chlorophylle amorphe répondrait à la formule :



Un calcul simple montre que la proportion du Magnésium contenu dans ce corps serait, si la formule était exacte, d'environ 2,7 0/o.

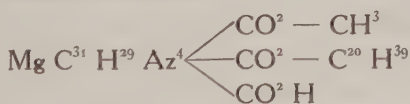
Ce qui caractérise la chlorophylle pure, ce qui a permis d'interpréter sa formule, c'est sa transformation sous l'action des alcalis :

Par contact prolongé, à froid, avec une solution de soude dans l'alcool méthylique par exemple on obtient le *phytol* qui est l'alcool $\text{C}^{20} \text{H}^{40} \text{O}$ (qu'on peut séparer par dilution dans l'eau et l'éther), et un composé sodique, qui traité par l'acide phosphorique et le phosphate monosodique, donne une substance que Willstätter considère comme un acide tribasique contenant du magnésium dans son radical, la *chlorophylline*



Comme on a pu, par une autre méthode (Zeisel) caractériser la présence dans la chlorophylle d'un groupe méthyle, et que la formation possible d'éther-sel laisse supposer l'existence de fonctions acides, la chlorophylle peut être considérée comme l'*éther phytilique et méthylique de la chlorophylline* (acide tribasique) dont une fonction serait libre.

La formule détaillée serait alors :

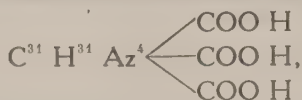


Ajoutons pour être complet et pour en finir avec la composition chimique de la chlorophylle, que le Magnésium semble bien lié au radical même et non à la fonction acide, et qu'il se comporte ainsi d'une façon analogue à la molécule de fer liée au radical de l'hématine.

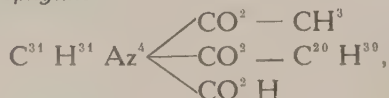
Ce qui nous intéresse le plus, ce sont les produits de décomposition de la Chlorophylle sous l'action des alcalis et des acides, en poussant particulièrement la désagrégation de la molécule jusqu'à la perte du Magnésium.

1° Sous l'influence des acides, la chlorophylline que nous avons obtenue plus haut et la chlorophylle perdent leur Magnésium.

La première se transforme en *phaeophorbine* dont la formule est

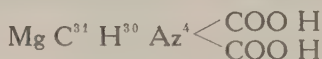


la seconde en *phaeophytine*



cette dernière pouvant d'ailleurs également aboutir à la *phaeophorbine* par l'action d'un alcali en solution dans l'alcool méthylique.

2° Si nous traitons maintenant la chlorophylline en tubes scellés à 140° par un alcali (potasse en solution dans l'alcool méthylique), on obtient deux composés isomères, de propriétés chimiques et physiques très voisines, la *glaucophylline* et la *rhodophylline* dont la formule

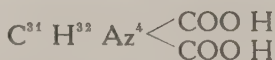


montre la présence de deux groupes carboxyles.

En poussant la réaction jusqu'à 200 et 250°, on obtient deux autres composés, n'ayant qu'un groupe carboxyle dans leur molécule, très près l'un de l'autre comme propriétés et isomères, la *pyrrophylline* et la *phyllophylline* $\text{Mg C}^{31} \text{H}^{31} \text{Az}^4 \text{COOH}$.

Tous ces composés contiennent encore du magnésium.

3° Il n'en est pas de même si nous traitons, dans les mêmes conditions, la *phaeophytine* ou la *phaeophorbine* obtenues dans le premier paragraphe. Nous obtenons alors des composés cristallisés exempts de magnésium, les *glaucoporphyrine* et *rhodoporphyrine* d'une part



et, en poussant plus loin la réaction, la *pyrroporphyrine* et la *phylloporphyrine* $\text{C}^{31} \text{H}^{33} \text{Az}^4 \text{COOH}$. Les deux premiers peuvent également s'obtenir à partir de la *glaucophylline* et de la *rhodophylline*, les deux autres à partir de la *pyrrophylline* et de la *phyllophylline*, sous l'action des acides minéraux dilués ou de l'acide oxalique.

Il est très intéressant pour nous de comparer ces porphyrines ainsi obtenues à partir de la chlorophylle avec d'autres porphyrines, très voisines comme propriétés et comme formules et issues de la destruction de l'hémoglobine.

L'hémoglobine, dont la formule est beaucoup plus complexe que celle de la chlorophylle (1) est composée d'une substance albuminoïde, la *globine* et d'un pigment ferrugineux, l'*hématine*.

La transformation de l'hémoglobine en globine et hématine est très facile. Il suffit en effet de faire bouillir l'oxyhémoglobine avec un acide ou un alcali.

Sous l'action de l'acide bromhydrique, l'hématine se transforme en une substance sans fer, l'*hématoporphyrine*, dont la formule et les propriétés chimiques sont très voisines de celles de la phylloporphyrine. Par l'action de l'acide iodhydrique et de l'iodure de phosphonium sur l'hématine (ou sur l'hématoporphyrine) on obtient une substance, également sans fer, dont la formule contient deux groupes carboxyles et qui se rapproche de la rhodoporphyrine : c'est la *mésoporphyrine*.

Si les auteurs ne semblent pas d'accord sur les formules exactes de tous ces corps, tous signalent leur parenté chimique et leurs propriétés voisines.

Ils signalent également la réduction de l'hématoporphyrine, la mésoporphyrine et la phylloporphyrine jusqu'à la formation de 2 molécules d'*hémopyrrol* (2) $C^8 H^{13} Az$, elles-mêmes composées par la fusion de 2 noyaux pyrroliques.

De sorte que les produits de décomposition de la Chlorophylle d'une part et de l'hémoglobine d'autre part semblent deux degrés d'oxydation d'une même substance.

Ainsi est établie l'étroite parenté des deux pigments du sang et de la feuille, ayant tous deux comme squelette de la molécule des noyaux pyrroliques.

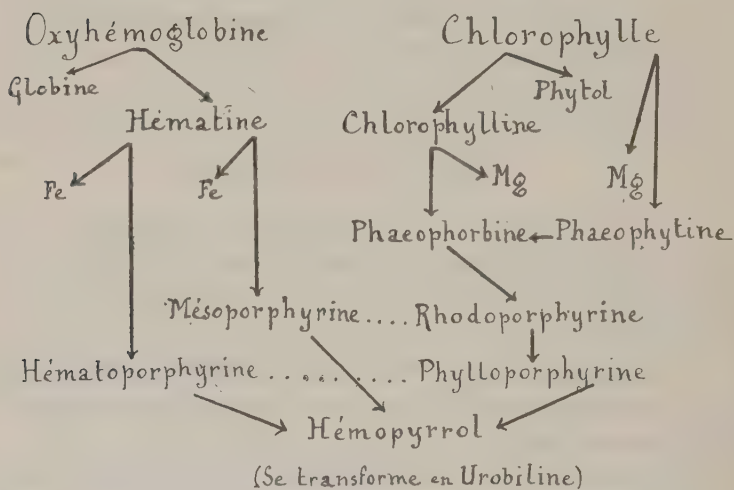
Le magnésium de la Chlorophylle, dont le rôle chimique et la liaison à la molécule s'apparentent à ceux du fer dans l'hématine, aurait peut-être une action catalytique de synthèse.

(1) Nous avons trouvé, signalée par Bohn, la formule $C^{544} H^{823} Az^{147} O^{174} S^2 Fe$ pour l'hémoglobine. Nous ne la donnons d'ailleurs pas comme certaine, mais plutôt comme terme de comparaison, les formules de l'hémoglobine et de ses dérivés différant suivant les auteurs.

(2) On a signalé aussi la transformation rapide et facile au contact de l'air de l'hémopyrrol en solution alcoolique, en une substance rouge, l'*urobiline*. Dès la deuxième heure, à la température de la chambre, la solution d'hémopyrrol contient déjà de l'urobiline.

Nous avons essayé de résumer en un tableau clair parlant aux yeux, les rapports et la parenté de tous ces composés.

Tableau montrant les produits de destruction de l'Oxyhémoglobine et de la Chlorophylle et la parenté des 2 pigments (personnel).



CHAPITRE II

Peut-on passer de la Chlorophylle à l'Hémoglobine?

Est-ce à dire que la Chlorophylle dans l'organisme se transformera en hémoglobine ? Rien ne nous permet encore, dans l'état de la question, de conclure ainsi. Nous ne pouvons qu'enregistrer les résultats déjà publiés, souligner certains faits qui semblent troublants, mais d'autres travaux sont encore nécessaires pour arriver à une conclusion certaine.

Nous ne croyons d'ailleurs pas que des publications aient déjà été faites sur le sort de la chlorophylle injectée sous la peau et nous n'avons trouvé que peu de renseignements sur ce que devient la chlorophylle ingérée.

Aussi nous contenterons-nous d'indiquer ici et sans ordre quelques remarques qui nous sont venues à l'esprit au cours de nos lectures à ce sujet :

Parmi les animaux dont le sang contient de l'hémoglobine, une toute petite partie, les carnivores, trouvent de l'hémoglobine toute prête dans leurs aliments. La plupart se nourrissent aux dépens du règne végétal et absorbent de la chlorophylle.

L'hémoglobine ingérée par les carnivores ne passe d'ailleurs naturellement pas sans altération dans leur sang. Bunge a signalé qu'elle est au contraire décomposée par les sucs digestifs, en globine et en hématine dont on retrouve une grande partie dans les fèces.

Il est à remarquer aussi que la chlorophylle est d'une digestion difficile, qu'elle est rejetée également en partie dans les fèces (du moins sous forme dérivée, la phylloerythrine, trouvée par Marchlewsky dans les excréments frais de vaches nourries exclusivement d'herbe fraîche et non retrouvée dans les selles d'animaux nourris sans chlorophylle).

Cependant, une partie de la chlorophylle ingérée semble accumulée, mise en réserve, puisque on en trouve chez les animaux inférieurs dans une annexe du tube digestif, le foie, et en connexion avec les pigments biliaires chez les animaux supérieurs, ainsi que le montrent les recherches de Dastre et Floresco. Ces auteurs ont constaté que la chlorophylle du foie disparaît en supprimant toute alimentation chlorophyllienne.

Que devient dans l'organisme le reste de la molécule chlorophyllienne ou hémoglobinique absorbée ? Abderhalden a montré que les composants inorganiques et en particulier le fer, le calcium et le magnésium sont séparés, dans le tube digestif, de la molécule des composés complexes que nous absorbons avec notre nourriture. Quant aux substances organiques restant après cette désagrégation de la molécule, tout semble montrer que la digestion en est poussée très loin, au moins jusqu'aux acides aminés (tryptophane, tyrosine, etc.) mais plus probablement jusqu'à l'hémopyrrol.

Abderhalden fait remarquer à ce sujet qu'une alimentation, même très riche en fer, peut être insuffisante pour fabriquer de l'hémoglobine, si elle ne fournit pas à l'organisme les autres éléments de la molécule.

QUELQUES CITATIONS :

« Il est possible qu'une autre partie (de la chlorophylle) soit dégradée et qu'elle fournisse, à l'absorption, des fragments pyrroliques que l'organisme utiliserait ensuite pour la synthèse de l'hématine. » (1)

« Il est tout à fait probable qu'une partie de la chlorophylle ingérée est utilisée par les cellules animales. » (2)

« En ce qui concerne le noyau pyrrolique, il est probable que ce sont les végétaux chlorophylliens, tous riches en dérivés pyrroliques qui, soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire des animaux herbivores, apportent à l'organisme sa provision de dérivés pyrroliques. En

(1) Lambling. — *Précis de Biochimie*, 1919, p. 450.

(2) Abderhalden. — *Lehrbuch des Physiolog., Chemie*, 1914, 1^{er} volume, Ch. XXXIII.

fait, dans l'anémie expérimentale, ce sont toujours les aliments naturels, riches en pigments tout formés (hémoglobine ou chlorophylle) qui donnent les meilleurs résultats. » (1)

QUELQUES EXPÉRIENCES, " IN VITRO " :

Elles sont peu nombreuses, mais importantes, formant les jalons d'où sortira bientôt la synthèse de l'hémoglobine.

Zaleski, agissant sur la mésoporphyrine en solution dans l'acide acétique cristallisable saturé de sel marin, a pu obtenir par addition d'acétate ferreux une substance dont les cristaux rappellent ceux de l'hémine et ont un spectre très voisin.

Bertin-Sans et Moitessier, partant de l'hématine en solution alcaline d'une part, et de la matière albuminoïde provenant de la décomposition de l'oxyhémoglobine par une solution alcoolique d'acide tartrique à 5 0/o d'autre part, ont pu par simple mélange jusqu'à neutralisation, obtenir de la méthémoglobine décelable au spectroscope puis, par addition d'une trace de sulfure d'ammoniaque, aboutir à l'hémoglobine.

Tous ces faits nous amènent à penser qu'il n'est pas impossible que la chlorophylle introduite dans l'organisme animal soit détruite assez profondément, peut-être même jusqu'à production d'hémpyrrol et qu'elle fournisse ainsi les éléments d'une reconstruction de l'hémoglobine qui semble faire justement sa synthèse à partir des mêmes composés pyrroliques.

Ou bien, si la destruction de la chlorophylle n'est poussée que jusqu'à la formation des porphyrines, celles-ci sont assez voisines des porphyrines d'origine hématique pour leur supposer un rôle semblable à celui de la mésoporphyrine dans la reconstruction de l'hémine (*Zaleski*). Ceci n'est qu'une simple hypothèse et qui demande à être vérifiée ou transformée.

Mais si le passage entre la série des dérivés chlorophylliens et la série des dérivés de l'hémoglobine n'est pas encore exactement connu, il faut bien penser qu'il existe puisque nos expériences *in vivo* ont donné, par introduction de chlorophylle dans l'organisme, une augmentation très nette du pigment sanguin.

(1) Tiffeneau. — *Art. Hémoglobine in Traité du Sang*, de Gilbert et Weinberg, 1913,

DEUXIÈME PARTIE

La Chlorophylle au point de vue expérimental et clinique.



CHAPITRE I

Méthode suivie. Appareils employés. Produit utilisé.

Nous avons cherché dans ce travail à réaliser les trois conditions suivantes :

1° Avoir des méthodes assez simples et des appareils d'un emploi assez facile pour être à l'abri des grosses erreurs dues à l'inhabilité de l'expérimentateur.

2° Recourir cependant de préférence aux appareils les plus précis de façon à éliminer autant que possible les erreurs dues aux imperfections des appareils.

3° Cependant, il reste malgré tout une part personnelle à l'expérimentateur dans la lecture même des résultats ; mais cette nouvelle cause d'erreur est notablement diminuée du fait que c'est toujours la même personne qui a opéré avec les mêmes appareils et dans les conditions les plus semblables possibles, et aussi du fait que dans l'interprétation et la discussion des résultats, nous ne tiendrons compte que des augmentations ou des diminutions notables et continues et non des chiffres absolus (1),

(1) Cette précaution est d'autant plus nécessaire que pour la numération des globules rouges par exemple, le nombre que nous avons obtenu a dû être multiplié par 5.000 pour donner le nombre d'hématies par mm³, de sorte que l'omission d'un seul globule entraîne une erreur de 5.000, et que celle, assez facile, de 10 globules donne une erreur de 50.000.

C'est donc en nous inspirant de ces principes, et après avoir comparé entre eux les divers appareils et les diverses méthodes que nous nous sommes décidés à employer les suivants.

Prise de sang.

Chez le lapin, le sang a été pris à la veine marginale de l'oreille.

Chez l'homme, le sang a été prélevé au bout du doigt après piquûre à la lancette, Quelques précautions à observer : laisser le sang sourdre naturellement, sans trop presser le doigt ; prélever le sang rapidement de façon à éviter la coagulation qui pourrait fausser les résultats.

Calcul de la teneur en hémoglobine.

Nous nous sommes contentés de l'échelle colorimétrique de Tallqvist qui nous a semblé suffisante parce que toujours maniée par la même main et nous a donné toute satisfaction par la facilité de son emploi.

On sait qu'elle se compose essentiellement d'une série de dix teintes étalon de plus en plus foncées et correspondant à une teneur en hémoglobine de 10, 20, 30, etc. . . , 100 %/o. Chaque teinte est percée en son centre d'un trou rond par lequel il est facile d'apercevoir et de comparer la tache faite sur un papier buvard très blanc par le sang à examiner. Il nous a semblé commode, et aussi plus exact, de toujours commencer la comparaison par la teinte la plus claire de l'échelle, pour arriver successivement aux teintes de plus en plus foncées.

Lorsque la tache de sang nous a paru nettement plus foncée qu'une des teintes de l'échelle et plus claire que la teinte immédiatement au dessus, nous avons noté un chiffre intermédiaire à celui correspondant aux 2 teintes trouvées. C'est ainsi par exemple que 75 signifie que la tache était plus foncée que la teinte 70 de l'échelle et moins foncée que la teinte 80. Enfin, nous avons cru commode de faire précéder parfois le chiffre trouvé du signe — ou + suivant que la tache, différant très peu d'une des teintes de l'échelle était cependant légèrement plus claire ou plus foncée. Par exemple : 70 + veut dire que la tache, très voisine de 70, était cependant légèrement plus foncée. (1)

(1) Les chiffres obtenus sont en général supérieurs à ceux qu'on trouve avec l'appareil de Gowers.

Numération globulaire.

Nous nous sommes servis d'un microscope Stiassnie (grossissement n° 6) et d'un hématimètre de Thoma.

La chambre graduée de l'hématimètre a un millimètre de long et de large et une hauteur d'un dixième de millimètre, de sorte qu'elle contient exactement $1/10 \text{ mm}^3$ de liquide. En la remplissant d'une dilution de sang au $1/100^e$, (1) nous obtiendrons donc le nombre de globules rouges par mm^3 de sang pur en multipliant par 1.000 le nombre de globules comptés dans la chambre. Pour la facilité des opérations, celle-ci est d'ailleurs divisée par un quadrillage en 400 petits carrés (soit 20 rangées de 20) dont nous avons compté 4 rangées de 20 (soit le cinquième) prises au hasard, horizontales ou verticales.

De sorte que si n est le chiffre compté, le nombre de globules dans la chambre est de $n \times 5$ et le nombre de globules par mm^3 de sang pur est :

$$N = n \times 5 \times 1.000 = 5.000 \times n$$

Nous avons employé une dilution au $1/10^e$ (2) pour la numération des globules blancs que nous avons effectuée d'une manière analogue, en comptant tous les leucocytes contenus dans la chambre graduée, et en multipliant par 100 le nombre ainsi obtenu.

Résultats obtenus.

Nous les avons consignés au jour le jour dans les observations des malades (voir dernier chapitre). Cependant nous avons voulu les rendre plus frappants et c'est pourquoi nous avons tracé pour chaque malade des

(1) Au moyen de la pipette graduée de l'hématimètre : une partie de sang, 100 parties de liquide de Marciano :

Sulfate de soude.	5 grammes
Eau distillée.	100 cm^3
Formol à 40 o/o.	1 cm^3

(2) Au moyen de la pipette graduée de l'hématimètre, une partie de sang, 10 parties du liquide suivant colorant seulement les leucocytes :

Acide acétique cristallisable . . .	1 cm^3
Violet de méthyle.	25 centigrammes
Eau distillée	Q. S. 100 cm^3

courbes représentatives de l'état du sang : une en trait noir portant en abscisses les jours et en ordonnées la teneur en hémoglobine, une en trait coupé de points (— · — · —) portant en abscisses les jours et en ordonnées le nombre de globules rouges, une en pointillé (- - - -) portant en abscisses les temps et en ordonnées le nombre des leucocytes.

Produit utilisé et mode d'emploi.

La chlorophylle que nous avons employé pour ces essais a été extraite de l'épinard (*Spinacia glabra*) à raison d'environ 10 à 20 grammes par kilog de plantes ; nous l'utilisons en solution huileuse répondant à la formule :

Chlorophylle pure (1).	5 cgr.
Huile d'olives pure, rigoureusement neutre. .	1 cm ³

La solution obtenue, exempte de toute substance étrangère, minérale ou organique, est limpide, d'un beau vert franc par transparence, rougeâtre par réfringence.

Mise en ampoules de 2 cm³ et stérilisée à 110°, elle se conserve indéfiniment.

Nous avons employé le contenu de ces ampoules en injections quotidiennes, sous-cutanées profondes ou intramusculaires, répétées en général pendant six jours et recommencées de la même manière, quand le malade restait à notre disposition après quelque jours de repos.

Ainsi pratiquées, ces injections ont toujours été bien tolérées, parfaitement indolores et ne colorant pas les téguments.

(1) Il existe dans le commerce diverses préparations de chlorophylle : on en utilise en particulier en pâtisserie comme colorant. Outre que les garanties de pureté manquent, on ne peut obtenir de solutions limpides avec de tels produits.

Pour avoir toute sécurité, nous nous sommes adressés aux laboratoires scientifiques de la Maison Dausse que nous sommes heureux de remercier ici de tout le soin apporté à la fabrication des préparations que nous leur avons demandées.

CHAPITRE II

Expérimentation chez le lapin.

La difficulté a été d'obtenir l'anémie expérimentale sans occasionner une perturbation trop grande de l'organisme, de façon à rester dans des conditions à peu près normales.

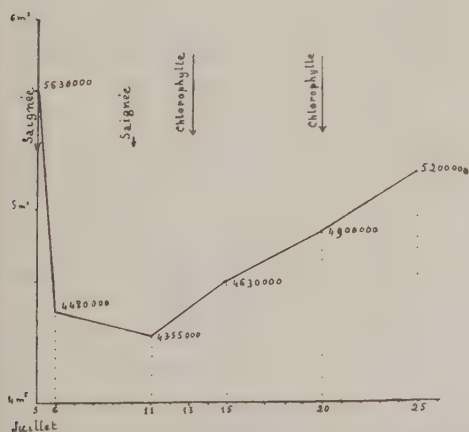
Des essais d'anémie par intoxication (gaz d'éclairage, phénylhydrazine) ayant échoué par suite de l'amaigrissement rapide et même de la mort des animaux en expérience, nous avons eu recours tout simplement à la méthode des saignées successives chez le lapin.

Voici les chiffres obtenus après saignée et après une à deux injections de 2cm³ de solution de Chlorophylle.

Lapin n° 1 (femelle).

Numération des globules rouges au début. . . 5.630.000
Saignées les 5 et 10 juillet.

Le 6 juillet. 4.480.000
Le 11 juillet 4.355.000



Injections de 2 cm³ de solution de Chlorophylle les 13 et 20 juillet.

Le 15 juillet 4.630.000
- 20 juillet 4.900.000
- 25 juillet 5.200.000

(Cas moyen. Assez forte anémie : perte de 1.275.000 globules. Relèvement continu du nombre des globules dès la 1^{re} injection, s'accroissant à la 2^e).

Lapin n° 2 (femelle).

Numération des globules rouges
au début 5.810.000

1^{re} saignée le 15 juillet.

le 17 juillet 4.910.000

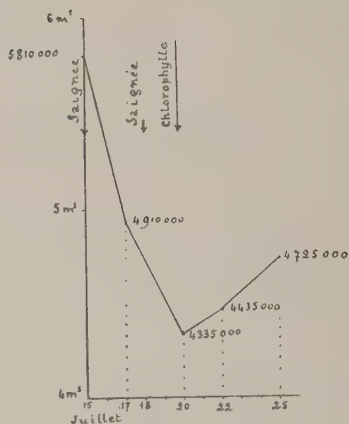
2^e saignée le 18 juillet.

le 20 juillet 4.335.000

Injection de 2 cm³ de solution
de Chlorophylle le 20 juillet.

Le 22 juillet 4.435.000

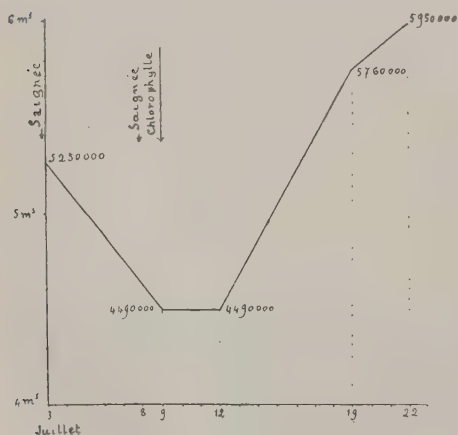
Le 25 juillet 4.725.000



(Ici la chute produite par les saignées a été considérable 1.475.000.
Le relèvement du nombre des globules n'a été observé qu'après une injection du produit).

Lapin n° 3 (femelle).

Numération au début 5.250.000 globules rouges.
Après deux saignées les 3 et 8 juillet.



Numération le 9 juillet : 4.490.000

Injection du produit
le 9 juillet.

Le 12 juillet 4.490.000

- 19 juillet 5.760.000

- 22 juillet 5.950.000

(La perte de globules a été moins importante : 760.000 seulement. Aussi le relèvement a été con-

sidérable, après une seule piqûre de Chlorophylle et le nombre des globules rouges a dépassé rapidement *et de beaucoup* le nombre primitif).

De ces exemples, il résulte que chez le lapin, l'injection d'une ampoule de chlorophylle a toujours été suivie d'un relèvement notable du nombre de globules rouges.

CHAPITRE III

Étude clinique et thérapeutique.

Nous avons cru devoir commencer ce chapitre par le résumé des observations des malades traités et par la liste des numérations faites aussi fréquemment que possible, et des courbes représentatives de l'état du sang au fur et à mesure du traitement. Dans quatre cas, nous avons recherché également les variations du poids. Les autres malades n'ont pu être pesés.

Nous avons suivi les malades le plus longtemps possible, notant l'état du sang après le traitement et recommençant parfois une série d'injections. Nous avons veillé à ce qu'aucun autre traitement ne soit institué en même temps que les injections de Chlorophylle, et, en général, nous avons choisi des malades ayant séjourné depuis quelques temps déjà à l'hôpital de façon à éliminer l'influence toujours possible d'un changement de vie et de nourriture sur l'état du sang.

Nous avons classé les observations en rapprochant les anémies ayant la même maladie causale. Car nous n'avons trouvé que peu d'anémies essentielles et nous avons dû nous adresser dans la majeure partie des cas à des anémies symptomatiques. Il serait intéressant de faire porter des recherches analogues sur toutes les classes d'anémies.

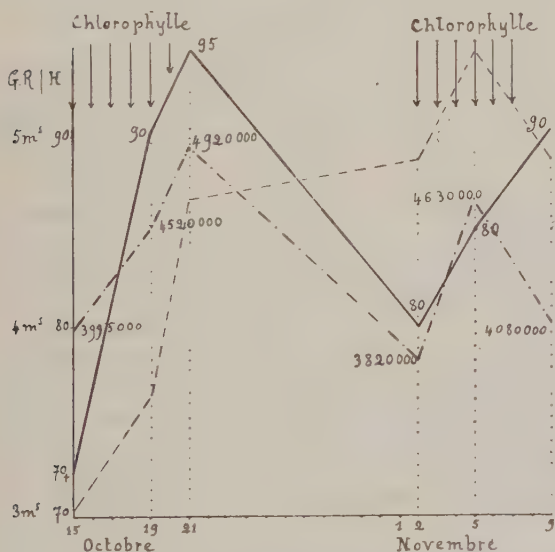
Cette suite un peu sèche d'observations et de chiffres, a permis à l'expérimentateur de comparer attentivement les résultats obtenus, de rechercher s'ils ne peuvent pas se grouper dans une loi commune, et si dans tous les cas traités la Chlorophylle n'a pas eu une même action sur les éléments du sang.

Cette vue d'ensemble fait l'objet de la fin de ce chapitre.

Anémies essentielles.

Observation N^o 1. — M^{lle} Louise M., 38 ans, employée de commerce.

Entrée à l'hôpital le 3 Octobre pour fatigue générale, palpitations au moindre effort, étourdissements, sueurs nocturnes profuses, amaigrissement de 2 kilogs en quelques mois.



A signaler de plus un manque total d'appétit, une constipation opiniâtre (gastro-entérite il y a un an).

Toux sèche le matin au réveil, sans expectoration.

Règles régulières, d'abondance normale. Pas de pertes blanches.

À l'examen, on est frappé par le mauvais état général de la malade dont le teint est très pâle, les yeux cernés, les muscles flasques, la langue saburrale.

La température, 37°6 le jour de l'entrée, oscille ensuite entre 37° et 37°2.

La tension (Vaquez) est 12-8.

On entend un léger souffle mésosystolique à la pointe du cœur qui présente parfois quelques irrégularités.

Quelques rares frottements disséminés dans les poumons.

La radioscopie montre les poumons parfaitement clairs y compris les sommets.

Aucun traitement autre que la Chlorophylle.

NUMÉRATIONS :

15 octobre	H : 70 +	G. R.	3.995.000	G. B.	9.100
------------	----------	-------	-----------	-------	-------

1^{re} Série quotidienne de Chlorophylle (6 piqûres) à dater du 15 octobre.

19 octobre	H : 90	G. R.	4.520.000	G. B.	10.200
------------	--------	-------	-----------	-------	--------

21 octobre	H : 95	G. R.	4.920.000	G. B.	12.200
------------	--------	-------	-----------	-------	--------

2^e Série (6 piqûres) à dater du 2 novembre.

2 novembre	H. : 80	G. R.	3.820.000	G. B.	12.600
------------	---------	-------	-----------	-------	--------

5 novembre	H. : 85	G. R.	4.630.000	G. B.	13.800
------------	---------	-------	-----------	-------	--------

9 novembre	H. : 90	G. R.	4.080.000	G. B.	12.800
------------	---------	-------	-----------	-------	--------

La courbe ci-dessus montre l'augmentation nette de la richesse en hémoglobine et du nombre de globules rouges, dès les premières piqûres de Chlorophylle. Entre les 2 séries il y a fléchissement des 2 tracés.

A l'examen, le 12 novembre, après la deuxième série de piqûres, il est curieux de noter que la malade se dit moins fatiguée, qu'elle a meilleur appétit, que ses téguments sont nettement plus colorés. On ne trouve plus de souffle à la pointe du cœur et les palpitations ont considérablement diminué, ne persistant que la nuit exceptionnellement.

Observation N° 2. — (incomplète) M^{lle} Olga V., 19 ans, modiste.

Vient consulter parce qu'elle se sent fatiguée et incapable de travailler, ayant eu successivement en l'espace d'un mois, deux abcès à la gorge, une grippe et une angine. A eu ses règles très rapprochées au mois de mai.

Antécédents personnels : au moment de la formation, il y a 6 ans, après une hémorragie grave, a été très anémiée et a dû partir à la campagne où elle reste 2 ans.

A l'examen, état général assez satisfaisant, teint pâle, muqueuses légèrement décolorées. Pas de lésions viscérales, Poumons et cœur normaux.

NUMÉRATIONS :

27 Mai H : 70 + G. R. 4.070.000 G. B. 10.800

Piqûres de Chlorophylle les 27, 28, 30, 31 mai.

31 mai H : 80 G. R. 4.410.000 G. B. 14.000

Augmentation nette de la teneur en hémoglobine et du nombre des globules rouges.

Malheureusement, la malade part à la campagne, ce qui interrompt es piqûres et les numérations.

Anémie grave pernicieuse.

Observation N° 3. — M. F..., facteur des postes.

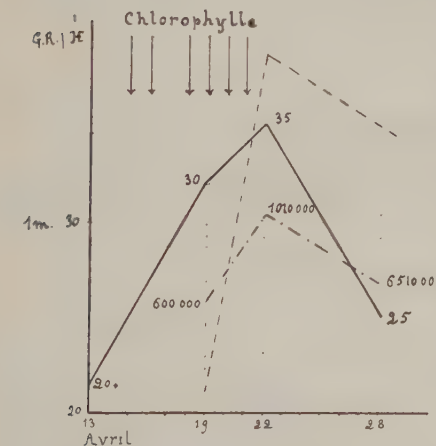
Quand nous sommes appelés auprès de ce malade, nous le trouvons

couché, extraordinairement pâle, d'un blanc cireux, la respiration difficile. Depuis plusieurs mois il ne se levait pas, mangeant à peine.

A l'examen, très mauvais état général, malade amaigri présentant un gros œdème des membres inférieurs et des mains.

Foie débordant d'un travers de doigt le rebord inférieur des fausses-côtes.

Craquements fins d'œdème pulmonaire aux deux bases.



Plusieurs souffles extra-cardiaques nets, variables d'un examen à l'autre comme positions et comme temps.

Pas de signes de lésions viscérales : pas de douleurs, pas de vomissements, pas de sang dans les selles (Réaction de Meyer négative), pas d'albumine dans les urines.

Le 13 avril, le premier examen de sang, fait au domicile a permis seulement de connaître la teneur en hémoglobine et de faire l'examen sur lame, le contenu des pipettes s'étant renversé pendant le transport.

H. : 20 · Globules rouges très déformés : anisocytose et poikilocytose.

Pourcentage des leucocytes. Pour cent :

Lymphocytes : 25 - Polynucléaires : 65 - Grand mononucléaire : 1
Moyens mononucléaires : 9.

Hématies nucléées : 25 s. 200 éléments.

Injection quotidienne de chlorophylle à dater du 15 avril :

19 avril H. : 30 + G. R. 600.000 G. B. 4.200

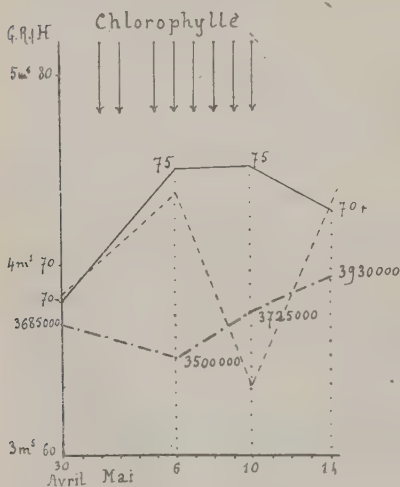
22 avril H. : 35 G. R. 1.010.000 G. B. 7.700

Augmentation nette de la teneur en hémoglobine et du nombre des hématies mais l'état général reste très mauvais lorsque on interrompt les piqûres. On soutient le malade avec de l'huile camphrée.

20 avril H. : 25 G. R. 651.000 G. B. 7.000

On essaie sans résultat une série d'injections de citrate de fer. Le malade meurt au milieu de mai.

Anémie chez des Tuberculeux.



Observation N^o 4. —
M^{me} C. Claire, 22 ans, sans profession.

Dernières règles le 11 mars 1921.

Entrée le 11 avril avec un gros foyer de congestion de toute la portion moyenne et inférieure du poumon droit. Respiration soufflante et gargouillements au sommet droit.

Râles de bronchite, expiration soufflante à gauche.

(Début des accidents pulmonaires il y a 11 jours par un point de côté violent, des frissons, de la fièvre, des vomissements verdâtres).

A l'hôpital, la malade tousse beaucoup avec expectoration abondante,

visqueuse, brun-rougeâtre dans laquelle on ne découvre aucun bacille de Koch (en plusieurs examens).

Température à l'entrée 40°.

Aphonie subite, sans angine.

Le 26 avril, on trouve une respiration soufflante aux deux sommets, un souffle tubaire net à droite qui disparaît le 12 mai.

L'état général reste mauvais, la malade se sent très fatiguée, son teint est pâle, ses muqueuses décolorées; l'appétit manque.

Un examen de sang, fait le 30 avril montre :

H : 70 — G. R. 3.685.000, G. B. 9.650

Piqûres de Chlorophylle les 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mai.

6 mai H. : 75 G. R. 3.500.000 G. B. 10.850

10 mai H. : 75 G. R. 3.725.000 G. B. 8.700

14 mai H. : 70 + G. R. 3.930.000 G. B. 10.800

Augmentation nette et continue du nombre des globules rouges, légère augmentation de la teneur en hémoglobine.

La température tombe au-dessous de 38° à partir du 9 mai et se maintient entre 36°5 et 37°5 à partir du 24 mai.

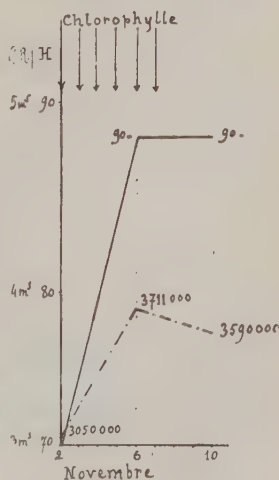
Observation N° 5. — M^{lle} Fernande F., sans profession 22 ans.

Début très ancien : bronchite tous les hivers. Soignée depuis 2 ans 1/2. D'abord à Laënnec puis dans un sanatorium (près de 2 ans).

Crachats hémoptoïques il y a 2 ans.

Actuellement elle tousse et crache peu. L'appétit est conservé mais elle maigrit beaucoup, depuis le début de sa maladie. 3 kgs dans les 3 derniers mois. A l'examen, mauvais état général, téguments et muqueuses décolorées.

Au sommet droit, respiration soufflante accompagnée de craquements et de râles sous crépitants fins. Au sommet gauche, respiration rude. Râles de bronchite disséminés sur toute la hauteur des 2 poumons.



A la radio, on observe un sommet droit gris, ne s'éclairant pas à la toux. Une grosse chaîne ganglionnaire à droite, une plus petite à gauche

NUMÉRATIONS :

2 novembre H. : 70 G. R. 3.050.000 Poids : 43 kgs 800

Injection quotidienne de Chlorophylle (six jours.)

6 novembre H. : 90 — G. R. 3.711.000 Poids : 44 kgs 200

10 novembre H. : 90 — G. R. 3.590.000

Augmentation surtout nette et constante de la teneur en Hémoglobine augmentation du nombre des globules rouges assez forte mais ayant tendance à ne pas persister.

13 novembre, Poids 44 kgs 375.

Observation N° 6. — M^{lle} A. H. 23 ans (communiquée)

Anémie tuberculeuse apyrétique.

Résultats obtenus après injections quotidiennes de Chlorophylle.

NUMÉRATIONS ET POIDS :

25 octobre H. : 65

G. R. 3.650.000

Poids : 43 kgs 300

30 octobre H. : 65

G. R. 3.930.000

Poids : 44 kgs 800

3 novembre H. : 80—

G. R. 3.880.000

4 novembre

Poids : 45 kgs 800

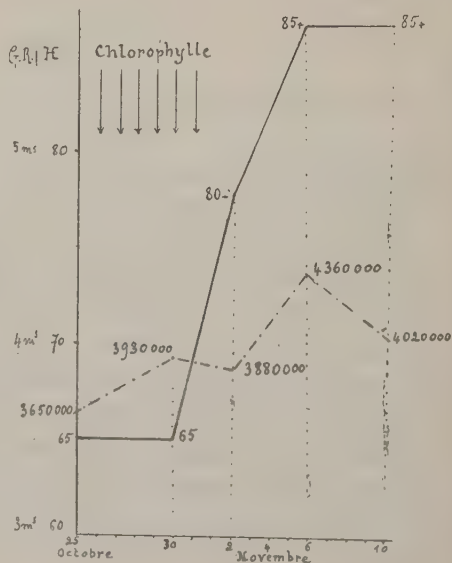
6 novembre H. : 85

G. R. 4.360.000

10 novembre H. : 85

G. R. 4.020.000

Poids : 45 kgs 600



Augmentation nette de la teneur en hémoglobine, et moins rapidement du nombre des globules rouges. La valeur globulaire passe successivement par les chiffres suivants : 0,91 — 0,82 — 1 — 0,97 et 1,05. Le poids a augmenté de 2 kgs 300 en 15 jours.

Enfin, nous citerons les 2 observations suivantes, très incomplètes au point de vue de l'examen du sang mais intéressantes parce que les malades ont été régulièrement pesés pendant le traitement.

Observation N° 7. — M. Edmond P., 33 ans.

Tuberculose pulmonaire apyrétique datant de vingt mois. Hospitalisé pendant quelques mois à Brévannes où il a eu une hémoptysie.

Arrive à l'hôpital avec un état général très mauvais : amaigri, dyspnéique, sans forces.

Point de côté léger à droite. Toux matutinale. Expectoration mucopurulente (ayant contenu des bacilles de Koch).

A l'examen, matité sous claviculaire droite. A ce niveau, souffle musical. A gauche, râles sous crépitants discrets dans toute la hauteur.

A la radiscopie, obscurité complète du 1/3 supérieur du poumon droit. Grisaille du sommet gauche, ne s'éclairant pas à la toux.

Immobilité complète des côtes. Gros emphysème des bases.

13 novembre	H. : 75	G. R. 3.260.000	Poids 51 kgs 900
18 novembre	H. : 75	G. R. 3.640.000	Poids 51 — 700
23 novembre			Poids 52 — 700
28 novembre			Poids 53 kgs
1 ^{er} décembre			Poids 53 kgs 500

Augmentation légère du nombre des globules rouges. Augmentation de poids très sensible (1 kg 600 en 18 jours).

Observation N° 8. — M^{lle} Hélène, S. 17 ans.

Début subit 15 jours avant son entrée à l'hôpital, après s'être très fatiguée en soignant sa mère, morte depuis d'une pneumonie. Est restée alitée depuis. A l'entrée à l'hôpital, mauvais état général, téguments décolorés. Fatigue générale.

A l'examen, on trouve sur 2 centimètres environ un souffle hilaire dans l'espace interscapulohuméral droit. A la radio, en plus d'une légère obscurité du sommet droit, on découvre une chaîne ganglionnaire assez grosse au hile droit.

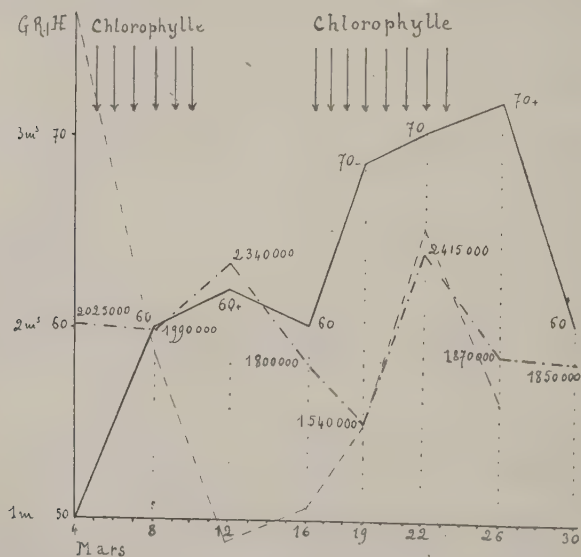
2 novembre	H. : 80 —	G. R. 3.430.000	Poids 35 kgs 400
9 novembre	H. : 80 —	G. R. 3.750.000	Poids 36 — 600
13 novembre			Poids 36 — 800
21 novembre			Poids 37 — 800
28 novembre			Poids 38 — 300
1 ^{er} décembre			Poids 39 — 100

Augmentation légère du nombre des globules rouges. Augmentation très forte de poids : 3 kgs 700 en un mois environ.

Anémie chez un brightique.

Observation n° 9. — Nicolas H., cardeur de coton.

Soigné déjà depuis un mois pour brightisme (œdème et ascite légers,



albuminurie, petits signes). L'état général est très mauvais, accompagné de fonte musculaire. Le teint est terreux, les muqueuses sont décolorées.

Le malade se dit sans forces. L'appétit est cependant conservé. Pas de troubles digestifs autres qu'une diarrhée intermittente.

Cœur normal. Artères dures. Tension : 25-10.

Bronchite chronique des 2 cotés.

NUMÉRATIONS :

4 mars	H : 50	G. R. 2.025.000	G. B. 11.100
--------	--------	-----------------	--------------

Piqûres de chlorophylle les 5, 6, 7, 8, 9 et 10 mars.

8 mars	H : 60	G. R. 1.990.000	G. B. 7.750
--------	--------	-----------------	-------------

12 mars	H : 60 +	G. R. 2.340.000	G. B. 5.750
---------	----------	-----------------	-------------

L'état général reste mauvais. On fait une seconde série de piqûres les 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 et 23 mars.

16 mars	H : 60	G. R. 1.800.000	G. B. 6.200
---------	--------	-----------------	-------------

19 mars	H : 60 +	G. R. 1.540.000	G. B. 7.000
---------	----------	-----------------	-------------

Un étalement sur lame montre des globules rouges gros et sans formes à noyaux.

22 mars	H : 70	G. R. 2.415.000	G. B. 8.800
---------	--------	-----------------	-------------

26 mars	H : 70 +	G. R. 1.870.000	G. B. 7.200
---------	----------	-----------------	-------------

30 mars	H : 60	G. R. 1.850.000	
---------	--------	-----------------	--

Augmentation nette et durable de la teneur en hémoglobine. Augmentation seulement passagère du nombre des hématies.

Anémie chez une néoplasique.

Observation N° 10. — M^{me} N., 51 ans.

Entrée à l'hôpital pour troubles digestifs, douleurs au creux de l'épigastre, vomissements continuels remontant à un an environ — et pour fatigue générale accompagnée de phénomènes douloureux dans les membres et dans tout le corps.

On est frappé par l'état de maigreur de la malade, par sa faiblesse, par l'état de sa peau d'une pâleur cireuse et de ses muqueuses qui sont complètement décolorées. Œdème malléolaire. A l'hôpital, elle vomit chaque fois qu'elle absorbe le moindre aliment, solide ou liquide, elle a des alternatives de constipation et de diarrhée, on ne trouve de sang ni

dans ses vomissements, ni dans ses selles macroscopiquement. Cependant une réaction de Meyer dans les selles a été positive. L'examen radioscopique montre un estomac ptosé avec aspect serratique au bord de la grande courbure et contenant presque toute la bouillie bismuthée ingérée la veille.

Un deuxième examen (23 novembre) montre, 5 heures après l'ingestion du bismuth, un abondant résidu gastrique avec tête du repas médio-transverse. Remplissage normal. Image résiduelle refoulée contre la paroi latérale gauche de l'abdomen.

Tout fait penser à un néoplasme gastrique.

EXAMEN DU SANG :

17 novembre H : 25
G. R. 1.813.000
G. B. 6.000
Poids : 34 kgs 500

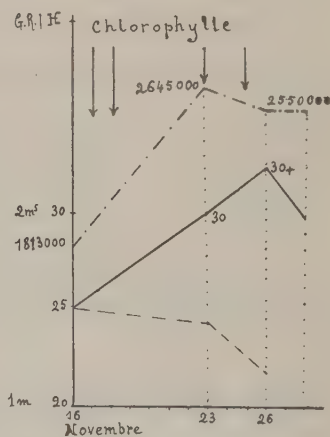
Equilibre leucocytaire : sur 100 éléments on compte : Polynucléaires : 74 - Lymphocytes : 10 - Moyens mononucléaires : 6 - Grands mononucléaires : 6 - Matzellen : 3. Forme trans. : 1.

On note 2 globules rouges nucléés.

Déformation globulaire nette.

Anisocytose et poikilocytose très marquées.

23 novembre	H : 30	G. R. 2.645.000	G. B. 5.700
26 novembre	H : 30 +	G. R. 2.550.000	G. B. 5.200
28 novembre	H : 30	G. R. 2.550.000	



Augmentation légère de la teneur en hémoglobine. Augmentation assez forte et durable du nombre de globules rouges.

La valeur globulaire est successivement 0,70 - 0,60 - 0,66 - 0,60.

L'état général reste très mauvais. Cependant la malade déclare se sentir plus forte. Elle sommeille moins et s'assied sur son lit au lieu de rester toute la journée, allongée et somnolente.

Anémie chez un azotémique atteint d'ostéomyélite.

Observation N° 11. — M. M. René, 16 ans, cultivateur.

Deuxième récurrence d'ostéomyélite de la jambe gauche dont la première atteinte remonte à 8 ans. A cette époque on dut intervenir, ouvrir et drainer et la suppuration dura trois ans (dont un an fut passé à Berck). Quelques mois après, il se forme au même niveau un nouvel abcès qu'on doit inciser et qui suppure plusieurs mois.

La crise actuelle a commencé le 13 juillet 1921 par une tuméfaction chaude, douloureuse, de la région poplitée gauche avec douleur provoquée nette au niveau du condyle interne. La jambe est en demi-flexion, impotente.

L'état général est extrêmement mauvais. Le malade est extrêmement amaigri, très pâle, les muqueuses décolorées; il ne mange pas, il a des vomissements alimentaires et bilieux fréquents et on découvre 5 gr. 32 par litre d'albumine dans ses urines (13 gr. 25 par 24 heures), des cylindres hyalins, et 1 gr. 12 d'urée dans le sang.

On le traite par le vaccin antistaphylococcique du 23 au 29 septembre, mais lorsqu'on entreprend le traitement par la chlorophylle, l'état général est encore très mauvais, la pâleur des téguments et des muqueuses persiste, la température oscille entre 37 et 37° 6, les vomissements ont disparu.

12 novembre	H : 60 +	G. R. 3.310.000	G. B. 19.200
15 novembre	H : 75	G. R. 3.440.000	G. B. 15.500
19 novembre	H : 70	G. R. 3.500.000	
23 novembre	H : 75	G. R. 3.500.000	G. B. 15.000

Augmentation nette, persistante de la teneur en hémoglobine. Augmentation plus faible du nombre des globules rouges. La valeur globulaire est successivement de 1 - 1,10 - 1 et 1,07

ture abdominale, un régime lacto-végétarien très strict et un traitement alcalin. L'état général reste médiocre. On a recours à la chlorophylle.

NUMÉRATIONS :

25 mars, H : 75, G. R. 3.530.000, G. B. 5.000.

Injectons de chlorophylle les 26 et 27 mars, puis les 31 mars, 1^{er}, 2, 3, 4 et 5 avril.

4 avril H : 80 G. R. 5.430.000

7 avril H : 85 G. R. 5.950.000 G. B. 4.600

14 avril H : 80 G. R. 5.060.000 G. B. 3.300

21 avril H : 80 G. R. 4.800.000 G. B. 4.700

Augmentation portant surtout sur le nombre de globules rouges et plus légèrement sur la teneur en hémoglobine.

État général à la fin du traitement nettement meilleur.

Observation N^o 13. — M. Léon L., 48 ans, imprimeur.

Entré à l'hôpital le 23 novembre parce qu'il a vomi du sang rouge il y a 8 jours et que ses selles étaient noires.

Depuis une quinzaine de jours environ avant son hématémèse, il ressentait dans la région épigastrique une assez vive douleur, apparaissant presque immédiatement après les repas et durant une demie heure à une heure. Depuis, aucune hématémèse ne s'est reproduite. Les selles sont redevenues jaunes et le malade a tendance à la constipation.

A l'examen on trouve un malade maigre (58 kilos) le teint particulièrement pâle.

Depuis une huitaine de jours environ la douleur est très diminuée, localisée dans l'hypocondre droit à 2 cms au dessus de l'ombilic, sans propagation. Elle n'est provoquée que par une forte pression à ce niveau.

Le foie est abaissé, dépassant les fausses côtes de 3 travers de doigts environ.

A gauche la respiration est un peu soufflante. A droite au niveau de la fosse sous épineuse, un petit foyer de gros râles à la fin de l'expiration. Cœur normal.

A la radio : Estomac vide 5 heures après le repas bismuthé. — Évacuation, remplissage et contractions, tout est normal.

NUMÉRATIONS GLOBULAIRES :

24 novembre	H : 40	G. R. 1.980.000	G. B. 8.400
Injections de chlorophylle les 24, 26, 28, 29, 30 novembre.			
28 novembre	H : 60	G. R. 3.120.000	G. B. 7.400
1 ^{er} décembre	H : 65	G. R. 3.150.000	G. B. 9.500

Augmentation nette du nombre des globules rouges et de la teneur en hémoglobine.

Enfin, nous avons voulu essayer l'action de la chlorophylle dans un cas d'ictère hémolytique remontant à plusieurs mois et qui se trouvait dans le service. (Wasserman partiellement positif)

Le résultat a été franchement mauvais.

Les premières numérations avaient donné pour résultats :

H : 60 G. R. 3.270.000 G. B. 10.700

Malgré les piqûres, le nombre de globules a diminué rapidement, l'état général est devenu de plus en plus mauvais, les muqueuses et les téguments sont plus jaunes. Une céphalée tenace s'installe. Cet état persiste malgré des injections de citrate de fer, puis finit par s'amender au bout d'une quinzaine de jours de traitement martial.

Enfin le nombre des globules est resté stationnaire dans les environs de 3.500.000.

De la lecture attentive de ces treize observations, il résulte que dans tous les cas, les injections de chlorophylle chez des anémiques divers, ont été suivies d'une augmentation notable, parfois considérable (observation n° 12) du nombre des hématies et de la teneur du sang en hémoglobine. C'est d'ailleurs surtout sur cette dernière que semble porter la plus forte augmentation et la plus rapide, ainsi que nous l'observons dans la plupart des cas cités.

Si on observe parfois (observations n° 4 et n° 9), à la seconde numération, une très légère diminution du nombre des globules rouges, elle est toujours suivie d'une augmentation notable à l'examen suivant.

Nous avons tenu à constater, lorsque cela nous était possible, l'état du sang plusieurs jours après la fin du traitement. Dans un cas (observation n° 12) nous avons pu constater que quinze jours après la dernière

injection, le nombre des globules rouges se maintenait de 1.300.000 plus élevé que le nombre primitif, tandis que la teneur en hémoglobine se maintenait à 80 contre 75.

Dans les autres cas, nous n'avons pas été étonnés de voir l'état du sang revenir progressivement à l'état primitif. Nous n'avons pu en effet faire nos essais que sur des cas d'anémies symptomatiques et il est évident que lorsque le traitement cesse, la maladie cause d'anémie reprend son processus d'appauvrissement du sang. Il est à noter cependant que l'équilibre primitif n'est atteint qu'après un laps de temps beaucoup plus long qu'il n'en faut pour obtenir une augmentation nette du nombre des globules et de la teneur en hémoglobine.

Enfin il est très intéressant d'observer que dans les 2 cas (observations n° 1 et n° 9) où nous avons pu pratiquer, après un court repos, une seconde série d'injections, le résultat s'est montré le même à la deuxième série qu'à la première.

Nous n'avons pas trouvé d'effets constants sur le nombre de globules blancs.

Dans les 4 cas où les malades ont pu être pesés, nous avons noté une augmentation de poids assez forte et assez rapide atteignant même 3 kg. 700 dans un cas (n° 8).

Nous n'avons cru devoir noter les changements survenus dans l'état général, que dans les quelques cas où ils étaient parfaitement nets, sans aucun doute possible.

Il est évident que l'intérêt de ce travail réside surtout dans la similitude des résultats obtenus dans les treize cas d'anémie traités et dans les trois cas expérimentaux. Il serait intéressant de pousser plus loin ces recherches et de les étendre à un nombre beaucoup plus considérable de malades, en recherchant quelles sont les anémies les plus favorablement influencées par la médication chlorophyllienne.

CONCLUSIONS

La chlorophylle et l'hémoglobine ont des constitutions chimiques voisines ; leurs produits de décomposition sont identiques, pouvant aboutir à l'hémapyrrol, mais la chlorophylle ne contient pas de fer.

Dans les treize cas d'anémie traités dans ce travail, nous avons constaté, dès les premières injections de chlorophylle, une augmentation forte et rapide de la teneur du sang en hémoglobine, accompagnée d'une augmentation, relativement moindre, du nombre des globules rouges.

Le Président de Thèse :

P. CARNOT.

Le Doyen :

ROGER.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Nous ne citons ici que les ouvrages dans lesquels nous avons trouvé des renseignements intéressant directement notre thèse ou pouvant servir de direction générale ou de points de comparaison.

- 1 CLAUDE BERNARD, *Leçons sur les phénomènes de la vie, communs aux animaux et aux végétaux*, 1878 (6^e leçon).
- 2 BELZUNG, *La Chlorophylle et ses fonctions* (thèse d'agrégation) 1889.
- 3 BUNGE, *Cours de chimie physiologique et pathologique*. (Traduit sur la 2^e édit. allemande par Jacquet) Paris; Carré 1891.
- 4 VAN TIEGHEM, *Traité de Botanique*, Savy 1891; Tome I, p. 164 et suivantes, p. 497 et suivantes.
- 5 ARMAND GAUTIER, *Art. Chlorophylle in : Dictionnaire de Chimie pure et appliquée de Würtz*; II^e supplément 1894.
- 6 ENGEL et MOITESSIER, *Traité élémentaire de Chimie biologique, pathologique, et clinique*, Baillière 1897.
- 7 DASTRE et FLORESCO, *Recherches sur les matières colorantes du foie et de la bile et sur le fer hépatique*, Steinheil 1899.
- 8 G. BOHN, *L'évolution du pigment*, Collection Scientia 1901.
- 9 BOUILLAT, *De l'emploi du fer et de divers métaux lourds dans le traitement des anémies*, Thèse de Paris 1901.
- 10 F. PÉCHOUTRE, *Revue annuelle de botanique*; VI, *La Chlorophylle et ses fonctions* in : *Revue générale des Sciences pures et appliquées*; T. XV 1904.
- 11 NENCKI, *Opera omnia*; T. II, Braunschweig 1904.
- 12 L. MARCHLEWSKI, *Über ein unwandlungs produkt des Chlorophylls in tierischen organismus*, in *Zeitschrift für physiolog. Chemie*; T. 41 (1904), p. 33 et suivantes.
- 13 VASSEUR, *Recherches hématologiques sur l'action thérapeutique de Rumex crispus dans quelques cas d'anémie* (Travail du Laboratoire de pathologie expérimentale faculté de médecine de Lille); Thèse 1905.
- 14 Ch. AUBERTIN, *Les réactions sanguines dans les anémies graves*; Thèse Paris 1906.
- 15 G. BOHN, *Rapports et contrastes biologiques entre les animaux et les végétaux*; in. *Revue des Idées*, 15 février 1906.
- 16 A. ETARD, *La biochimie et les chlorophylles*. Masson 1906.
- 17 J. VILLARD, *Etude de physiologie comparée sur le pigment chlorophyllien chez les végétaux et les animaux*; Thèse sciences naturelles, Lyon 1907.
- 18 G. KIMPFLIN, *Essai sur l'assimilation protochlorophyllienne du carbone*; Thèse sciences naturelles, Lyon 1908.

- 19 A. CAPRON, *Contribution à l'étude de la sérothérapie antianémique*; Thèse Lille 1908.
- 20 CH. ANDRÉ, *Chimie agricole*; T. I. (Chimie végétale), Baillière (encyclopédie agricole) 1909.
- 21 BÉHAL et VALEUR, *Traité de chimie organique*; 1911.
- 22 HENRI LEROUX, *La chlorophylle* (travaux de M. Willstätter) in : Journal de pharmacie et chimie, 7^e série, T. III n^o 10, 16 mai 1911, p. 491.
- 23 ABDERHALDEN, *Synthese der Zellbausteine in Pflanze und Tier*; Berlin 1912
- 24 GILBERT et WEINBERG, *Traité du sang, article hémoglobine* (TIFFENEAU) Baillière 1913.
- 25 MAURICE PERRIN, *Traitement des anémies* (Consultations médicales françaises, T. XV.
- 26 WILLSTATTER und STOLL. *Untersuchungen über chlorophyll*; Berlin Springer 1913.
- 27 P. CARNOT, *Médications hématiques*; in Médications symptomatiques (T. XVI Bibliothèque thérapeutique, p. 161-222).
- 28 VAQUEZ et AUBERTIN, *Le traitement des anémies* (Actualités médicales) Baillière 1914.
- 29 P. BRETEAU, *La matière colorante du sang. Exposé des récentes recherches relatives à sa constitution*; Journal pharmacie et chimie, 1^{er} juin 1914, (p. 563 et suivantes).
- 30 ABDERHALDEN, *Lehrbuch der Physiologischen Chemie*; 1914 3^e édition.
- 31 BERTRAND et THOMAS, *Manipulations de chimie biologique*; Dunot et Pinat 1919.
- 32 LAMBLING, *Précis de biochimie*; Masson 1919.
- 33 R. CLOGNE, *Analyses de chimie biologiques*; Lefrançois 1920.
- 34 *Journal médical français : L'hématie*; novembre 1920, CASTAIGNE, chronique. J. TROISIER, *Les hémolysines et le processus hémolytique*.
- 35 WÜRMSER, *Les fonctions de la Chlorophylle* in : Archive phys. et biolog. 1^{er} septembre 1921, Vigot.
- 36 G. ANDRÉ, *Art. Chlorophylle* in ; Dictionnaire de physiologie.
- 37 R.-D. HORAND, *Contribution à l'étude des pigments*. Th Sciences naturelles, Bordeaux 1908.

